ПАРАЗИТОЛОГИЯ, 24, 2, 1990

УДК 576.895.122:576.316(235.33)

© 1990

КАРИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ТРЕМАТОД СЕМЕЙСТВ ALLOCREADIDAE, PLAGIORCHIIDAE И GORGODERIDAE ИЗ СЕВЕРО-ЗАПАДНОЙ ЧУКОТКИ

Я. В. Баршене, О. М. Орловская

Кариотип партенит *Bunodera lucioperca* равен 26 и включает две пары субмета-метацентрических, одну пару — субтелоцентрических и 10 пар акроцентрических хромосом. Диплоидное число хромосом у *Plagiorchis nanus* $2n=22$. 20 хромосом имеют медиально и субмедиально расположенные центромеры, 2 — относятся к субтелоцентрическому типу. У мариты *Phyllodistomum conostomum* описано 16 хромосом, у партенит *Phyllodistomum* sp. — 18 хромосом. В хромосомных комплексах марит *Ph. conostomum* было отмечено 4 метацентрические, у *Phyllodistomum* sp. — 2 метацентрические хромосомы.

На основании анализа 203 морфологических признаков марит из 63 различных семейств была создана филогенетическая схема трематод (Brooks e. a., 1985). При этом было отмечено, что некоторые таксоны в данной схеме пока не имеют постоянного места. Для уточнения филогенетических связей в настоящее время весьма широко применяются кариологические исследования организмов, с помощью которых был решен целый ряд спорных вопросов филогении птиц (Belterman, De Boer, 1984; Christidis, 1987), саламандр (Sessions, Kezer, 1987), лемуров (Dutrillaux e. a., 1982) и многих других организмов.

В 1986 г. в районе дельты р. Чаун нами был собран материал для кариологических исследований представителей трех семейств трематод отряда Plagiorchiiformes. Целью нашего исследования было определение особенностей структурной организации хромосомного аппарата *Bunodera luciopercae* (Mueller, 1776), *Plagiorchis nanus* (Rudolphi, 1802), *Phyllodistomum conostomum* (Olsen, 1876) и *Phyllodistomum* sp. и выяснение их филогенетических отношений (род *Bunodera* Бруксом с соавторами включен в состав сем. Allocreadidae — Brooks e. a., 1985).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Материал для кариологических исследований *Bunodera lucioperca* был собран из 2 экз. зараженных моллюсков *Sphaerium rectidans*. Кариотип *Plagiorchis nanus* был изучен на материале, полученном из 5 моллюсков *Lymnaea zazurensis*. Хромосомный комплекс *Phyllodistomum* sp. изучен у партенит, обнаруженных в 32 моллюсках *Sphaerium rectidans*. Кариотип *Ph. conostomum* определен в клетках марит, которые паразитировали у 12 экз. хариуса *Thymallus thymallus* L. Трематоды рода *Phyllodistomum* и *B. luciopercae* были найдены у хозяев, обитавших в оз. «Заповедное».

Хромосомные комплексы партенит изучались обычными методами (Baršienė, Grabda-Kazubska, 1988a). Взрослые гельминты *Ph. conostomum* выдерживались 3—4 ч в 0.005%-ном растворе митостатика колхицина (приготовленного

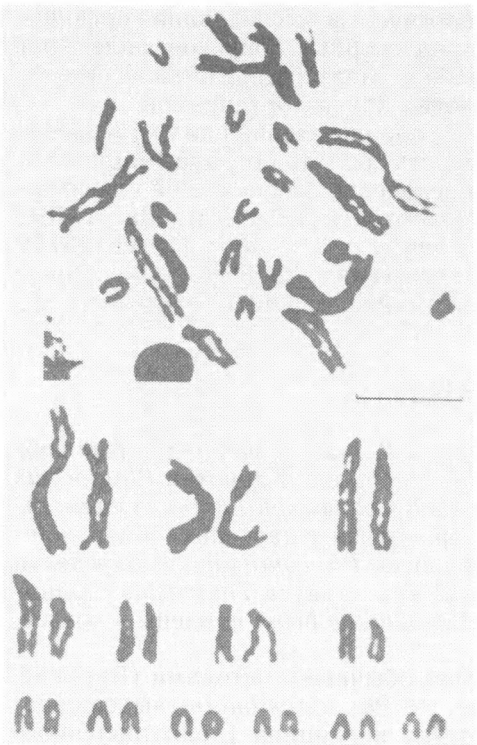
на физиологическом растворе), подвергались в течение 1 ч гипотонической обработке и фиксировались в жидкости Карнуа (3 части этилового спирта, 1 часть ледяной уксусной кислоты). В течение 10—12 ч мариты окрашивались в 4 %-ном растворе ацет-орсеина и раздавливались в 2—3 каплях 45%-ного раствора уксусной кислоты. Края покровных стекол заключали в канадский бальзам. Препараты сразу же изучали под микроскопом марки Иенамед и фотографировали отобранные метафазы.

Кариометрический анализ осуществлен при измерении хромосом из 10 кариотипов каждого вида. Определялась абсолютная, относительная длина хромосом и центромерный индекс. Классификация хромосом осуществлена по методу Левана с соавторами (Levan e. a., 1964).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Хромосомные комплексы *B. luciopercae* удалось изучить на примере лишь метафазных клеток партенит. Подавляющее большинство клеток содержало по 26 хромосом (рис. 1). По абсолютным и относительным размерам в кариотипе выделяются первые три пары элементов. Их абсолютная длина колеблется от 9.5 до 11 мкм, относительные размеры достигают 44.5 % от длины всего гаплоидного набора. Остальные 10 пар хромосом комплекса составляют по размерам плавно убывающий ряд. 1-я и 2-я пары представлены субметацентрическими-метацентрическими, 6-я — субтелоцентрическими элементами. Все остальные хромосомы набора относятся к акроцентрическому типу (центромерный их индекс не превышает 10 %).

Диплоидный набор хромосом *P. nanus* равняется 22 (рис. 2). Структура кариотипа этого вида трематод оказалась весьма характерной для сем. Plagiorchiidae. 1-я пара представлена крупными метацентрическими хромосомами, абсолютные и относительные размеры которых почти в 2 раза превышают раз-



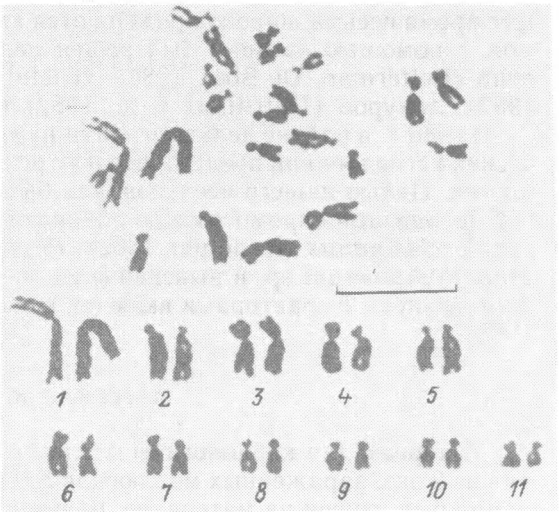


Рис. 2. Кариотип *Plagiorchis nanus*, $2n=22$.

Рис. 1. Кариотип *Bunodera luciopercae*, $2n=26$, шкала — 10 мкм.

Таблица 1

Результаты кариометрического анализа *Plagiorchis nanus*

№ пар хромосом	$L^a \pm S_D$	$L^r \pm S_D$	$I^c \pm S_D$	Классификация хромосом
1	8.22±0.38	20.09±0.38	47.11+0.57	m
2	4.75±0.27	11.58±0.20	14.32±1.00	st
3	4.73+0.26	11.53+0.18	42.38+0.93	m
4	4.05±0.20	9.92+0.23	30.19+0.88	sm
5	3.67±0.15	8.99+0.08	25.17+1.46	sm
6	3.01±0.16	7.35+0.22	37.51+2.75	m
7	2.78±0.15	6.77±0.14	31.82+1.32	sm
8	2.62±0.13	6.41±0.15	36.43+1.94	sm—m
9	2.50±0.09	6.10+0.16	35.43+1.51	sm—m
10	2.40+0.13	5.86+0.10	32.87+1.33	sm—m
11	2.22±0.11	5.43+0.11	34.19+1.22	sm—m

Примечание. Здесь и в табл. 2: L^a — абсолютная длина хромосом, в мкм; L^r — относительная длина хромосом (отношение длины каждой хромосомы к длине гаплоидного набора), %; I^c — центромерный индекс (отношение длины короткого плеча к длине всей хромосомы); m — метацентрические, sm — субметацентрические, st — субтелоцентрические хромосомы.

меры элементов 2-й пары. Метацентрические элементы составляют 3-ю и 6-ю пары. Хромосомы 2-й пары имеют субтерминальную локализацию центромер, 4-й, 5-й и 7-й пар относятся к субметацентрическому типу. Самые мелкие четыре пары хромосом имеют субмедиальное-медиальное расположение центромер (табл. 1). Локализация центромер наиболее изменчива у хромосом 6-й пары.

В водоеме с условным названием «Заповедное» у хариусов были найдены мариты *Phyllodistomum conostomum* (сем. Gorgoderidae). Хромосомные комплексы были изучены в оплодотворенных яйцеклетках у 32 экз. марит. Диплоидные наборы включают 16 хромосом (рис. 3). 1-ю пару составили крупные метацентрические элементы, абсолютная длина которых достигала 9.73 мкм, относительные размеры превышали 34 % от длины всего гаплоидного набора (табл. 2). Следует подчеркнуть, что такое огромное количество генетического материала, заключенного в один структурный элемент генома, нами было обнаружено лишь в Z хромосоме у *Schistosomatium* sp. (Баршене и др., 1989). Абсолютные и относительные размеры 2-й пары хромосом *Ph. conostomum* были в два раза меньше, чем размеры 1-й пары. Хромосомы 2—5-й пар имели субтерминальную локализацию центромер. Акроцентрическими оказались хромосомы 6-й и 7-й пар, а самые мелкие элементы хромосомного комплекса являлись метацентрическими (табл. 2). Таким образом, в кариотипе *Ph. conostomum* было обнаружено малое количество групп сцепления. Кроме того, в комплексе преобладали одноплечие хромосомы.

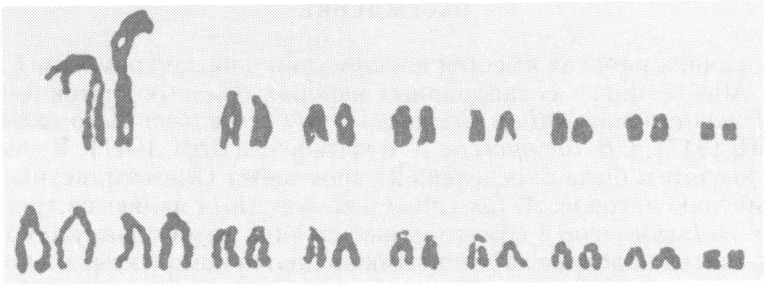


Рис. 3. Кариотипы филлодистом: наверху — *Phyllodistomum conostomum*, $2n=16$, внизу — *Phyllodistomum* sp., $2n=18$.

Таблица 2

Результаты кариометрического анализа филлодистом

№ пар хромосом	*Phyllodistomum conostomum*				*Phyllodistomum* sp.			
	$L^a \pm S_D$	$L^r \pm S_D$	$I^c \pm S_D$	классификация хромосом	$L^a \pm S_D$	$L^r \pm S_D$	$I^c \pm S_D$	классификация хромосом
1	9.73±1.43	34.64±1.62	47.79±0.64	m	7.92±1.00	19.61±0.57	11.04±0.89	a
2	4.18±0.47	15.13±0.29	13.54±0.62	st	7.17±0.84	17.84±0.27	10.99±0.77	a
3	3.34±0.21	12.47±0.63	16.23±1.14	st	5.59±0.47	14.15±0.56	12.89±1.36	st
4	2.91±0.28	10.61±0.34	17.76±1.00	st	4.47±0.47	11.20±0.38	13.70±0.87	st
5	2.29±0.21	8.40±0.29	16.70±1.84	st	3.91±0.43	9.76±0.18	14.44±1.24	st
6	1.93±0.17	7.09±0.20	10.77±0.83	a	3.35±0.42	8.43±0.34	16.59±1.73	st
7	1.69±0.13	6.29±0.29	11.61±1.47	a	2.90±0.32	7.24±0.24	18.71±1.23	st
8	1.44±0.10	5.37±0.24	49.27±0.37	m	2.54±0.24	6.41±0.29	17.67±1.33	st
9					2.17±0.20	5.46±0.15	48.60±0.51	m

В моллюсках *Sphaerium rectidans* в том же водоеме «Заповедное» были обнаружены партениты рода *Phyllodistomum*. По морфологическим особенностям церкарии оказались близки к виду *Ph. conostomum*. При изучении хромосомных комплексов было обнаружено, что партениты филлодистом в диплоидных наборах содержат 18 элементов (рис. 3). В кариотипе двуплечими оказались лишь самые мелкие единицы набора, т. е. 9-я пара представлена метацентрическими хромосомами. Хромосомы 1-й и 2-й пар относятся к акроцентрическому типу. Субтелоцентрическое строение имеют все остальные хромосомы комплекса (табл. 2).

При сравнении изученных кариотипов марит *Ph. conostomum* и партенит *Phyllodistomum* sp. было выявлено, что уменьшение количества хромосом у *Ph. conostomum* происходило за счет робертсоновских транслокаций двух первых пар акроцентрических элементов и образования крупных метацентрических единиц генома. Различия в значениях центромерных индексов хромосом из 6-й и 7-й пар возникло, по-видимому, в результате перицентрических инверсий. Остальные элементы хромосомных комплексов марит и партенит филлодистом морфологически сходны (табл. 2).

Кариологические исследования трематод нами проводились паралельно с изучением хромосомных комплексов промежуточных хозяев. Особого внимания заслуживает тот факт, что моллюски *Sphaerium rectidans* оказались в водоемах Чукотки полиплоидными. Таким образом, трематоды *B. luciopercae* и *Phyllodistomum* sp. паразитируют у промежуточных хозяев, в геноме которых имеется около 200 структурно обособленных единиц.

ОБСУЖДЕНИЕ

В более ранних работах имеется информация о числе хромосом 5 видов трематод сем. Allocreadidae. В гаплоидных наборах половых клеток *Allocreadium isoporum, Bunodera sacculata* и *Crepidostomum serpentum* было найдено 8 хромосом (Britt, 1947), у *B. luciopercae* — 6 хромосом (Britt, 1947). В соматических клетках *A. fasciatusi* была определена 21 хромосома (Ramanjaneyulu, Madhavi, 1983). По мнению авторов, *A. fasciatusi* и *B. sacculata* являются триплоидными формами. У *B. luciopercae* в соматических клетках нами обнаружено 26 хромосом. Для трематод наиболее харатерными являются комплексы, включающие 22, 20 и меньше элементов. Больше 22 хромосом в кариотипах было описано у полиплоидных форм и трематод сем. Dicrocoeliidae (Sharma, Nakhasi, 1974; Moriyama, 1982; Dhar, Sharma, 1984). Таким образом, хромосомный аппарат *B. lucio-*

percae из Чукотки является весьма своеобразным среди трематод. Промежуточные хозяева чукотские моллюски *Sph. rectidans* — полиплоидный вид. Следовательно, система *B. luciopercae—Sph. rectidans* имеет весьма специфические черты. Не исключено, что и окончательным хозяином является либо полиплоидные хариусы, либо полиплоидная кумжа.

У некоторых видов трематод сем. Plagiorchiidae было изучено число хромосом (Britt, 1947; Sanderson, 1959; Burton, 1960), однако в эти годы кариотипический анализ еще не осуществлялся. Нами ранее на территории ПНР были изучены кариотипы 6 видов плагиорхид и описаны механизмы преобразования хромосомного аппарата этих трематод. Было выявлено, что наиболее тесными кариотипическими и филогенетическими связями сопряжены виды *Opisthioglyphe ranae, Haplometra cylindracea* и *Plagiorchis* sp. (Baršienė, Kazubska, 1988a, 1988b). К этой же кариотипически единой группе плагиорхид можно отнести также *Xiphidiocercaria Odening 7* (наши данные) и *Plagiorchis nanus*. Трематоды рода *Plagiorchis* имеют самое большое кариотипическое сходство, причем относительные размеры и морфология хромосом 8-й и 9-й пар оказались аналогичными. Межвидовые различия элементов из других пар обусловлены главным образом перицентрическими инверсиями в хромосомах из 3-й, 5—7-й пар, а также дупликациями и внутригеномными транслокациями генетического материала в 1-й, 4-й, 10-й и 11-й парах хромосом.

Всего в 3 работах содержатся сведения о числе хромосом в гаплоидных наборах 4 видов трематод, принадлежащих сем. Gorgoderidae. В половых клетках *Gorgodera amplicava* и *Phyllodistomum spatula* было описано 8 хромосом (Britt, 1947; Dhingra, 1954), у *Gorgoderina attenuata* — 7 (Willey, Kuolish, 1950) и *Probilotrema californiensis* — 6 (Britt, 1947). Чукотские филлодистомы в диплоидных наборах имели 16 и 18 хромосом. Межвидовые различия по числу хромосом возникли за счет робертсоновских транслокаций, в результате чего в хромосомном аппарате *Phyllodistomum conostomum* образовалась пара особенно крупных метацентрических хромосом.

Весьма интересным является существование в суровых условиях чукотской тундры в одном водоеме двух близкородственных видов из сем. Gorgoderidae. К сожалению, пока не изучены их жизненные циклы. *Ph. conostomum* паразитирует у рыб сем. Thymallidae, которые, как и представители сем. Salmonidae, являются полиплоидными (Васильев, 1985). Вообще в бассейне дельты р. Чаун преобладают полиплоидные виды рыб. Промежуточный хозяин *Phyllodistomum* sp. моллюск *Sphaerium rectidans* также относится к полиплоидным организмам. Следовательно, существование изученных нами филлодистом связано с хозяевами, в геноме которых имеются полиаллельные генетические единицы. Полиплоидия, очевидно, является одной из эволюционных стратегий северных организмов, так как способствует освоению более широких экологических ниш. Не исключено, что столь значительные изменения всего генома, в какой-то мере определяют плотность, численность и структуру популяций. Все эти генетические особенности хозяев несомненно играют роль в процессах формирования их взаимоотношений с трематодами. В хромосомном аппарате филлодистом преобладают субтелоцентрические, активно эволюционирующие структурные элементы геномов.

Обобщая результаты нашего исследования, можно высказать мнение, что кариотипы трематод 3 семейств представляют 3 весьма определенные группы. Исходя из имеющихся данных о кариотипах трематод сем. Allocreadidae и Troglotrematidae, невозможно обнаружить их монофилетического происхождения. На основе литературных и имеющихся у нас данных о кариотипах трематод из сем. Plagiorchiidae, Prostogonimidae, Lecithodendridae, Microphallidae и Gorgoderidae также нельзя говорить об их монофилетическом происхождении.

Список литературы

Баршене Я. В., Пяткявичюте Р. Б., Станявичюте Г. Й., Орловская О. М. Кариологические исследования трематод семейства Schistosomatidae из северо-западной Чукотки // Паразитология. 1989. Т. 23, вып. 6. С. 496—503.

Васильев В. П. Эволюционная кариология рыб. М.: Наука, 1985. 300 с.

Baršienė J. V., Grabda-Kazubska B. A comparative chromosome sets study of trematode (Plagiorchiidae). I. Karyotypes of Opisthioglyphe ranae, Haplometra cylindracea and Leptophallus nigrovenosus // Acta Parasitol. Polonica. 1988a. Vol. 4. P. 324—331.

Baršienė J. V., Grabda-Kazubska B. A. A comparative chromosome sets study of trematode (Plagiorchiidae). II. Karyotypes of Plagiorchis sp., Haematoloechus similis and H. asper // Acta Parasitol. Polonica. 1988b. Vol. 4. P. 332—339.

Belterman R. H. R., De Boer L. E. M. A karyological study of 55 species of birds, including karyotypes of 39 species new of cytology // Genetica. 1984. Vol. 65. P. 39—82.

Britt H. G. Chromosomes of digenetic trematodes // Amer. Nat. 1947. Vol. 81. P. 276—296.

Brooks D. R., O'Grady R. T., Glen D. R. Phylogenetic analysis of the Digenea (Platyhelminthes: Cercomeria) with comments on their adaptive radiation // Can. J. Zool. 1985. Vol. 63. P. 411—443.

Burton P. R. Gametogenesis and fertilization in the frog lung fluke, Haematoloechus medioplexus Stafford (Trematoda: Plagiorchiidae) // J. Morph. 1960. Vol. 107. P. 93—122.

Christidis L. Chromosomal evolution within the family Estrildidae (Aves). III. The Estrildae (waxbill finches) // Genetica. 1987. Vol. 72. P. 93—100.

Dhar V. N., Sharma G. P. Behavior of chromosomes during gametogenesis fertilization in Paradistomoides orientalis (Digenea: Trematoda) // Caryologia. 1984. Vol. 37, N 3. P. 207—218.

Dhingra O. P. Taxonomic values of chromosomes and cytoplasmic inclusions in a digenetic trematode Phyllodistomum spatula // Res. Bull. Panjab Univer. 1954. Vol. 51. P. 101—109.

Dutrillaux B., Couturier J., Warter S., Rumpler Y. Chromosomal evolution in «lemurs». VI. Chromosomal banding studies of Galago senegalensis, Galago alleni, Galago demidovii and Euoticus elegantulus // Folia Primatol. 1982. Vol. 37. P. 280—296.

Levan A., Fredgo K., Sandberg A. Nomenclature for centromere position on chromosomes // Hereditas. 1964. Vol. 52. P. 201—220.

Moriyama N. Karyological studies of bovine pancreatic flukes (Eurytrema sp.) and their phenotypes // J. Parasitol. 1982. Vol. 68. P. 898—904.

Ramanjaneyulu J. V., Madhavi R. Occurence of triploidy and parthenogenesis in the allocreadiid trematode, Allocreadium fasciatusi Kakaji 1969 // Current Sci. 1983. Vol. 52, N 10. P. 502—503.

Sanderson A. R. Maturation and fertilization in two digenetic trematodes, Haplometra cylindracea (Zeder, 1800) and Fasciola hepatica (L.) // Proc. Roy. Soc. Edinburg. 1959. Vol. 67B. P. 83—98.

Session S. K., Kezer J. Cytogenetic evolution in the plethodontid salamander genus Aneides // Chromosoma (Berl). 1987. Vol. 95. P. 17—30.

Sharma G. P., Nakhasi V. Studies on the chromosomes of three species of the Indian Digenetic trematodes // 3 intern. Congr. Parasitol., Miunchen, 1974, August 25—31, Proceed. I. P. 376.

Willey C. H., Koulish S. Development of germ cells in the adult stage of the digenetic trematode, Gorgoderina attenuata Stafford, 1902 // J. Parasitol. 1950. Vol. 36. P. 67—79.

Институт зоологии и паразитологии АН ЛитССР,
г. Вильнюс;
Институт биологических проблем Севера, АН СССР,
г. Магадан

Поступила 4.04.1988

KARYOLOGICAL INVESTIGATIONS OF TREMATODES OF THE FAMILIES ALLOCREADIDAE, PLAGIORCHIIDAE AND GORGODERIDAE OF NORTHWESTERN CHUKOTKA

Ya. V. Barshene, O. M. Orlovskaya

SUMMARY

Chromosome sets of *Bunodera lucioperca* include 26 structural units of genome, among which the first two pairs consist of submetacentric-metacentric, the sixth — of subtelocentric elements. All the rest chromosomes are of an acrocentric type. The karyotype of *Plagiorchis nanus* consists of 22 chromo-

somes. The structure of the chromosome set is 6m+6sm+8sm-m+2st. In fertilized eggcells *Phyllodistomum conostomum* maritae have 16 chromosomes, the karyotype structure is 4m+8st+4a. Parthenites of *Phyllodistomum* sp. in diploid sets maintain 18 chromosomes, the karyotype structure is 2m+ +12st+4a (m — metacentric, sm — submetacentric, st — subtelocentric, a — acrocentric chromosomes). Interspecific defferences of chromosome sets in the genus *Phyllodistomum* were formed due to robertson translocations and pericentric inversions. The results of this investigation do not corroborate the conception of monophyletic origin of trematodes of the order Plagiorchiiformes. The existence of trematodes of *B. luciopercae* and phillodistome in reservoirs of Chauna lowland is connected with hosts' polyploidy.